

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2000-214132

(P2000-214132A)

(43)公開日 平成12年8月4日(2000.8.4)

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テームト [*] (参考)
G 0 1 N 27/447		G 0 1 N 27/26	3 1 5 K 4 B 0 2 4
B 0 1 D 57/02		B 0 1 D 57/02	4 B 0 2 9
B 0 3 C 5/00		B 0 3 C 5/00	Z 4 D 0 5 4
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A
C 1 2 N 15/09		C 1 2 N 15/00	A
審査請求 未請求 請求項の数9 O L (全 10 頁)			

(21)出願番号 特願平11-13032

(22)出願日 平成11年1月21日(1999.1.21)

(71)出願人 000173751

財団法人川村理化学研究所

千葉県佐倉市坂戸631番地

(72)発明者 穴澤 孝典

千葉県佐倉市大崎台4-35-4

(72)発明者 寺前 敦司

千葉県佐倉市大崎台1-28-1-A-310

(74)代理人 100088764

弁理士 高橋 勝利

Fターム(参考) 4B024 AA11 AA19 CA01 HA11

4B029 AA07 BB20 CC01 FA02 FA03

FA04

4D054 FA06 FB09 FB18

(54)【発明の名称】 電気泳動セル及びその製造方法

(57)【要約】

【課題】 取扱が容易で、小型化、軽量化、安価な製造が可能で、しかも、試料の漏洩、分離能の低下、光学的検出を行う場合のSN比の低下等がなく、高速で、安定した運転が可能な微小電気泳動セルを提供すること。

【解決手段】 (1)基板、(2)該基板の表面に形成された幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝、(3)該溝に充填されたゲル、及び(4)ゲルが充填された溝を有する基板の表面を覆う架橋ポリマーで構成された塗膜、を有する電気泳動セル。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 (1) 基板、(2) 該基板の表面に形成された幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝、(3) 該溝に充填された、及び(4) ゲルが充填された溝を有する基板の表面を覆う架橋ポリマーで構成された塗膜、を有することを特徴とする電気泳動セル。

【請求項2】 (1) 幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2) ゲル原料をゲル化させてゲルとする第2工程、(3) ゲルが充填された溝を有する基板の表面を、ゲルと相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第3工程、及び(4) エネルギー線を照射することによって、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第4工程を有することを特徴とする請求項1に記載した電気泳動セルの製造方法。

【請求項3】 ゲル原料又はゲルと相溶しないエネルギー線硬化性化合物が、(メタ)アクリロイル基又はマレイミド基を有するエネルギー線硬化性化合物である請求項2記載の電気泳動セルの製造方法。

【請求項4】 基板が熱可塑性ポリマーから成る基板である請求項2又は3記載の電気泳動セルの製造方法。

【請求項5】 エネルギー線が紫外線である請求項2、3又は4記載の電気泳動セルの製造方法。

【請求項6】 (1) 幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2) ゲル原料が充填された溝を有する基板の表面を、ゲル原料と相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第2工程、及び(3) エネルギー線を照射することによって、ゲル原料をゲル化させると共に、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第3工程を有することを特徴とする請求項1に記載した電気泳動セルの製造方法。

【請求項7】 ゲル原料又はゲルと相溶しないエネルギー線硬化性化合物が、(メタ)アクリロイル基又はマレイミド基を有するエネルギー線硬化性化合物である請求項6記載の電気泳動セルの製造方法。

【請求項8】 基板が熱可塑性ポリマーから成る基板である請求項6又は7記載の電気泳動セルの製造方法。

【請求項9】 エネルギー線が紫外線である請求項6、7又は8記載の電気泳動セルの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、集積型DNA分析装置；微小電気泳動装置；医療検査用、生化学用、環境分析用、生物工学用などのバイオセンサーなどに使用される電気泳動セルに関する。

【0002】

【従来の技術】DNA、核酸、蛋白などの荷電化合物の

分離に用いられる電気泳動セルは、二枚のガラス板をスパーサーを介して平行に設置し、その間にゲル原料を充填し、重合させてゲル層を形成していた。この方法では、微小スケールの分離用電気泳動セルを形成することが困難であり、測定には比較的多量のサンプルが必要であった。一方、キャピラリー電気泳動セルは、内径約100 μ m、長さ数十cmのキャピラリーにゲルを充填して分離用セルとしたものであり、測定サンプル量の低減と分離能の向上が計られたが、測定に数時間~10時間を要していた。

【0003】これらの欠点を改良する目的で、ゲル電気泳動セルのマイクロ化と複数の分離ゲル流路を一体成形する試みが成されており、米国特許第5,707,506号明細書には、複数の細い溝が掘られたガラスやプラスチック製の基板にカバーをネジ止めなどの方法で密着させて、基板とカバーの間にキャピラリーを形成し、該キャピラリー中にゲルを充填した電気泳動用セルが開示されている。

【0004】

20 【発明が解決しようとする課題】しかしながら、上記米国特許に記載の電気泳動用セルでは、カバーを完全に基板に密着させることが困難であり、基板とカバーとの間に結露が生じることによる試料の漏洩、分離能の低下、光学的検出を行なう場合のSN比の低下等の不都合が生じがちであった。この現象は、基板やカバーを薄くした場合に、特に顕著となるため、その防止策として、基板やカバーを厚くする必要があり、電気泳動セルの低価格化を計る上での障害の一つとなっていた。また、構造が複雑であることも低価格化の障害となっていた。

30 【0005】本発明が解決しようとする課題は、取扱が容易で、小型化、軽量化、安価な製造が可能で、しかも、試料の漏洩、分離能の低下、光学的検出を行なう場合のSN比の低下等がなく、高速で、安定した運転が可能な微小電気泳動セルを提供することにある。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者等は、上記課題を解決する方法について鋭意検討した結果、ゲルが充填された溝を有する基板の表面を、架橋ポリマー、中でもエネルギー線硬化架橋ポリマーで構成された塗膜で覆うことにより、安定した運転が可能な微小電気泳動セルを安価に製造できることを見出し、本発明を完成するに至った。

【0007】即ち、本発明上記課題を解決するために、

(I) (1) 基板、(2) 該基板の表面に形成された幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝、(3) 該溝に充填された、及び(4) ゲルが充填された溝を有する基板の表面を覆う架橋ポリマーで構成された塗膜、を有する電気泳動セルを提供する。

【0008】また、本発明は上記課題を解決するため、(II) (1) 幅1~1000 μ m、深さ1~100

0 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2)ゲル原料をゲル化させてゲルとする第2工程、(3)ゲルが充填された溝を有する基板の表面を、ゲルと相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第3工程、及び(4)エネルギー線を照射することによって、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第4工程を有する上記(1)に記載した電気泳動セルの製造方法(以下、本発明の第1の製造方法という。)を提供する。

【0009】さらに本発明は上記課題を解決するために、(III)(1)幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2)ゲル原料が充填された溝を有する基板の表面を、ゲル原料と相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第2工程、及び(3)エネルギー線を照射することによって、ゲル原料をゲル化させると共に、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第3工程を有する上記(1)に記載した電気泳動セルの製造方法(以下、本発明の第2の製造方法という。)を提供する。

【0010】

【発明の実施の形態】本発明の電気泳動セルに用いられる基板の形状は、特に限定されず、用途目的に応じた形状を採りうる。例えば、フィルム状(シート状を含む)、板状、塗膜状、スチック状、その他複雑な形状の成型物などであり得るが、成形しやすさの面から、フィルム状又は板状であることが好ましい。電気泳動物質の検出を蛍光で行なう場合には、基板の厚みは薄い物が好ましい。また、基板が更に別の支持体上に形成されたものであってもよい。この場合の支持体の素材は任意であり、例えば、ポリマー、ガラス、セラミック、金属、半導体などであって良い。支持体の形状も任意であり、例えば、板状、フィルム状、スチック状、紙、布、不織布、多孔質体、射出成型品等であって良い。基板が塗膜状である場合などには、支持体と一体化された状態で使用して良い。複数の電気泳動セルを1つの基板上に形成することも可能であるし、これらを切断して複数の電気泳動セルとすることも可能である。

【0011】本発明の電気泳動セルは、小型のデバイスに好適であり、ゲルが充填された溝の寸法は、幅が1 μ m以上であり、3 μ m以上が好ましく、5 μ m以上であることがさらに好ましい。これより狭い幅の溝を有する電気泳動セルでは、検出感度が低下する上、セル製造コストの上昇を招くので好ましくない。溝の幅は、また、1000 μ m以下であり、300 μ m以下が好ましく、100 μ m以下であることがさらに好ましい。これより広い幅の溝を有する電気泳動セルでは、本発明の効果が小さくなるので好ましくない。溝の深さは1 μ m以上で

あり、10 μ m以上が好ましく、30 μ m以上であることがさらに好ましい。これより浅い溝を有する電気泳動セルでは、検出感度が低下する上、セル製造コストの上昇を招くので好ましくない。溝の深さはまた、1000 μ m以下であり、300 μ m以下が好ましく、100 μ m以下であることがさらに好ましい。これより深い溝を有する電気泳動セルでは本発明の効果が小さくなるので好ましくない。溝の幅/深さ比は、0.2~3の範囲が好ましく、0.5~2.0の範囲が特に好ましい。ゲル充填溝の長さは任意であり、用途目的により決定できるが、3mm~10cmの範囲であることが好ましい。ゲル充填溝は直線である必要はなく、任意の形状であってよいが、直線であることが好ましい。同一基板上において、ゲル充填溝に接続して他の機能部位、例えば、液体流路、液溜め、反応槽、電極などが形成されていても良い。液溜めと電極が同一基板上に形成されていることが好ましい。電極は、カーボン、金属、導電性ポリマー等の導電性物質の、真空蒸着、スパッタリング、印刷、塗布、接着(融着を含む)、圧着、粘着、ネジ止め、クリップ止めなどの任意の方法により形成することができる。

【0012】本発明の電気泳動セルに用いる基板の素材には、特に制約はなく、例えば、ポリマー、ガラス、石英、セラミック、シリコンの如き半導体、などが挙げられるが、これらの中でも、成形性及び生産性に優れたポリマーが特に好ましい。電気泳動物質の検出を蛍光で行なう場合には、基板の素材として励起光を透過する材料を用いることが好ましい。

【0013】基板に使用できるポリマーとしては、例えば、ポリスチレン、ポリ α -メチルスチレン、ポリスチレン/マレイン酸共重合体、ポリスチレン/アクリロニトリル共重合体の如きスチレン系ポリマー；ポリスルホン、ポリエーテルスルホンの如きポリスルホン系ポリマー；ポリメチルメタクリレート、ポリアクリロニトリルの如き(メタ)アクリル系ポリマー；ポリマレイミド系ポリマー；ポリカーボネート系ポリマー；ポリエチレン、ポリプロピレンの如きポリオレフィン系ポリマー；塩化ビニル、塩化ビニリデンの如き塩素含有ポリマー；酢酸セルロース、メチルセルロースの如きセルロース系ポリマー；ポリウレタン系ポリマー；ポリアミド系ポリマー；ポリイミド系ポリマー；ポリ-2,6-ジメチルフェニレンオキシド、ポリフェニレンサルファイドの如きポリエーテル系又はポリチオエーテル系ポリマー；ポリエチレンテレフタレート、ポリアリレートの如きポリエステル系ポリマー；エポキシ樹脂；ウレア樹脂；フェノール樹脂等を挙げることができる。基板に使用するポリマーは、単独重合体であっても、共重合体であっても良い。また、基板に使用するポリマーは、熱可塑性ポリマーであっても、熱硬化性ポリマーであっても良い。生産性の面から、基板に使用するポリマーは、熱可塑性

ポリマー又はエネルギー線硬化性の架橋重合体であることが好ましい。

【0014】また、本発明の電気泳動セルに使用する基板は、ポリマーブレンドやポリマーアロイで構成されていても良いし、積層体であっても良い。さらに、本発明の電気泳動セルに使用する基板中に、改質剤、着色剤等の添加剤が混入されていても良い。

【0015】基板に含有させることができる改質剤としては、例えば疎水化剤（撥水剤）として機能するシリコンオイルやフッ素置換炭化水素などが挙げられる。また、基板に含有させることができる着色剤としては、任意の染料や顔料、紫外線吸収剤が挙げられる。

【0016】基板を構成するポリマーの水との接触角（以下、「水との接触角」を「水接触角」と称する場合がある。また、本発明で言う接触角は静止角をいう。）には特に制約はないが、親水性でないポリマー、例えば、水接触角が45度を越えるポリマーであることが好ましく、水接触角が60度以上のものであることがさらに好ましい。水接触角が低いポリマーは、使用に際して、膨潤、寸法変化等の不都合が生じやすいので、好ましくない。ポリマーの水との接触角の上限は特に限定されず、180度であって良いが、高すぎると、基板と架橋ポリマー塗膜との良好な接着性を持たせるためのエネルギー線硬化性化合物が制約されるため、基板を構成するポリマーの水との接触角は、100度以下であることが好ましく、90度以下であることが更に好ましい。

【0017】ポリマーの水との接触角は、表面が平滑な成形物での測定値であり、測定に用いる成形物は溶融成形によるものが好ましい。溶融成形不能なポリマーは、溶剤キャスト法やオンサイト重合によっても良いが、この場合には気体と接触した側の表面で測定した値とする。

【0018】基板を、水接触角が45度を越えるような非親水性素材で構成する場合には、基板に設けられた溝の表面を親水化処理することが好ましい。親水化処理は、溝部にのみになされていることが、ゲル素材の充填が容易なため好ましいが、溝以外の基板表面、例えば、溝周辺部や面全体に及んでも良い。

【0019】溝表面の親水化方法は任意である。基板を構成する素材によっても採り得る方法は異なるが、例えば、プラズマ処理、プラズマ重合、コロナ放電処理、スルホン化処理、親水性化合物による表面修飾、表面への親水性化合物のグラフト重合、親水性ポリマーのコーティング等でありうる。あるいは、基板表面の親水化処理は電子線エッチング法などの、表面に微細な凹凸を形成させる物理的な親水化法であっても良い。プラズマ処理やプラズマ重合は、酸素；アセトン、有機酸その他の酸素含有化合物；アミン等の窒素含有化合物の存在下での処理が好適である。常圧プラズマ処理も可能である。親水化処理は、水接触角が45度以下になるよう実施する

ことが好ましい。

【0020】本発明の電気泳動セルの溝表面の親水化に用いる親水性化合物又は親水性ポリマーの親水基としては、例えば、ポリエチレングリコール基、水酸基、糖含有基、アミド基、ピロリドン基等のノニオン性親水基；カルボキシル基、スルホン基、燐酸基等のアニオン性親水基、アミノ基、アンモニウム基、フォスフォニウム基、スルホニウム基等のカチオン性親水基；アミノ酸含有基や燐酸基／アンモニウムイオン基などの双性イオン基等が挙げられる。勿論、これらの誘導体であって良く、例えば、アミノ基、アミド基、アンモニウム基、ピロリドン基のN置換体が挙げられる。これらの中でも、電気浸透を抑制し分解能を上げることができる点で、親水基はノニオン基であることが好ましく、電気浸透をコントロールする為に、カチオン基を加えることも好ましい。

【0021】親水性ポリマーを用いたコーティングとしては、例えば、親水性ポリマーの溶液を基板上に塗布する方法が挙げられる。使用できる可溶性ポリマーとしては、例えば、ポリヒドロキシメチルメタクリレート、エチエン／ビニルアルコール共重合体、スルホン化セルローズ、スルホン化ポリスルホンなどを挙げるができるが、この他にも、分子中に親水基有する非常に多くのポリマーが使用できる。

【0022】親水性ポリマーが基板に化学結合していない場合には、親水性ポリマーの親水性が高すぎると、親水性ポリマーが使用中に溶出しがちである。これを防止するためには、親水性ポリマーが架橋ポリマーであることが好ましい。親水性の架橋ポリマーからなるコート層を形成するには、リニアポリマーをコーティングした後に架橋させる方法、親水性の重合性化合物を含有する架橋重合性組成物をコーティングした後に架橋重合させる方法、により実施することができる。

【0023】親水性化合物による表面修飾の方法としては、例えば、濃硫酸、発煙硫酸、過硫酸塩などによるスルホン化；硝酸、発煙硝酸などによるニトロ化とその還元や置換反応によるアンモニウム基、アミノ基、アミド基、水酸基、カルボキシル基などの導入；ブロム化とその置換反応によるアンモニウム基、アミノ基、アミド基、水酸基、カルボキシル基などの導入；アジド等を用いた光化学反応、などが挙げられる。

【0024】表面への親水性化合物のグラフト重合の方法としては、基板のコロナ処理、プラズマ処理、放射線処理などの後、親水性の重合性化合物と接触させる方法；光励起の界面グラフト重合法、などが挙げられる。

【0025】基板に設けられた溝には、ゲルが充填されている。ゲルの種類は任意であり、電気泳動媒体として使用されるゲルであってよく、例えば、アクリルアミド系ゲル、アガロース系ゲル、などが挙げられる。

【0026】ゲルが充填された溝を有する基板上に設け

られる架橋ポリマー塗膜を構成するポリマーとしては、例えば、エポキシ樹脂、ウレタン樹脂などの熱硬化性樹脂の他、後述する本発明の製造方法で使用するエネルギー線硬化性樹脂、などが挙げられる。

【0027】架橋ポリマー塗膜は、硬化して架橋ポリマー塗膜となる架橋重合性化合物の塗工とオンサイト重合により形成することができる。重合性化合物の塗工方法としては、ゲル充填溝を有する基板の上に塗工できる任意の塗工方法を用いることができ、例えば、スピンコート法、ローラーコート法、流延法、ディッピング法、スプレー法、バーコーターやアプリケーションターを用いる方法、などが挙げられる。

【0028】架橋ポリマー塗膜は、ポリマーブレンドやポリマーアロイであっても良いし、複数層の積層体であっても良い。この場合、各層の素材は異なっていて良い。架橋ポリマー塗膜の上に、任意の材質のカバーが積層される場合には、該塗膜を接着剤として作用させることもできる。

【0029】電気泳動物質を蛍光で検出する方法を実施する場合には、基板又は架橋ポリマー塗膜の少なくとも一方を励起光を透過するものを選択すればよい。

【0030】架橋重合性化合物は、架橋重合して架橋ポリマー塗膜を形成できるものであれば任意であるが、重合速度の速さから付加重合性化合物が好ましく、重合性の炭素-炭素二重結合を有する化合物が好ましく、エネルギー線硬化性化合物が好ましい。これらの架橋重合性化合物の中でも、(メタ)アクリル系、マレイミド系、ビニルエーテル系の重合性化合物が特に好ましい。

【0031】本発明の第1の製造方法は、(1)幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2)ゲル原料をゲル化させてゲルとする第2工程、(3)ゲルが充填された溝を有する基板の表面に、ゲルと相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第3工程、及び(4)エネルギー線を照射することによって、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第4工程を有することを特徴とする、上記した電気泳動セルの製造方法である。

【0032】基板に幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を形成する方法は任意であり、溝のない基板を成形した後に溝を形成する方法、又は基板の成形と同時に溝を形成する方法のいずれでも良い。前者の方法として、例えば、半導体製基板やガラス製基板の場合などに好適なフォトリソグラフィを用いたエッチング法が挙げられ、後者の方法として、例えば、熱可塑性ポリマー製基板の場合に好適な射出成型法；溶剤可溶性ポリマー製基板の場合に好適なキャスト法；エネルギー線重合性ポリマー製基板の場合に好適なフォトリソグラフィ法が挙げられる。

に制約がなく、例えば、毛管力を利用して溝に流し込む方法、X-Yアプリケーションターにより注入する方法、ディッピングその他の方法により基板全面に塗布した後、溝以外の部分のゲル原料を掻き落とす方法、などが挙げられる。

【0034】本発明の第1の製造方法においては、ゲル原料は溝中でゲル化させる。ゲル原料の種類、配合、ゲル化方法は何ら制約はなく、電気泳動に使用できる任意のものを採用することができる。そのようなゲル化方法としては、例えば、ラジカル重合、アニオン重合、カチオン重合などの架橋重合法や、多価イオン、ラジカル発生剤などの架橋剤、放射線などが挙げられる。また、架橋重合法は、熱重合、エネルギー線重合、水や還元剤などの助剤との反応により重合活性種を発生させる架橋重合などであって良い。これらの中でも、室温付近において、水や還元剤などの助剤との反応により重合活性種を発生させる架橋重合が好ましい。

【0035】室温における架橋重合法に好適なゲル原料としては、アクリルアミドなどの単官能の付加重合性モノマーとジアクリルアミドなどの多官能の付加重合性モノマーの混合物に、室温で架橋重合を開始する重合開始剤を添加することが好ましい。室温で架橋重合を開始する重合開始剤としては、例えば、ペルオキシ二リン酸アンモニウムとN, N, N', N'-テトラメチルエチレンジアミンの混合物、などが挙げられる。

【0036】本発明の第1の製造方法において、ゲル原料のゲル化後に、ゲルが充填された溝を有する基板の表面にエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する。

【0037】本発明の製造方法で用いるエネルギー線硬化性組成物に含まれるエネルギー線硬化性化合物は、エネルギー線硬化性組成物の塗布から硬化までの間にゲルと相溶しないことが必要である。ゲルと相溶するとゲルの特性が変化し、電気泳動分離に支障を来すことがある。ゲルとの相溶を避けるためには、エネルギー線硬化性化合物として、非水溶性のものをを用いることが望ましい。

【0038】本発明の製造方法で用いるエネルギー線硬化性化合物は、ゲルと相溶しないこと以外には特に制約はないが、付加重合性のものが重合速度が速いため好ましい。エネルギー線硬化性化合物は、ラジカル重合性、アニオン重合性、カチオン重合性等任意のものであってもよい。エネルギー線硬化性化合物は、重合開始剤の非存在下で重合するものに限らず、重合開始剤の存在下でのみエネルギー線により重合するものも使用することができる。

【0039】そのようなエネルギー線硬化性化合物としては、重合性の炭素-炭素二重結合を有する物が好ましく、中でも、反応性の高い(メタ)アクリル系化合物や

化するマレイミド系化合物が好ましい。

【0040】エネルギー線硬化性化合物として使用できる(メタ)アクリル系モノマーとしては、例えば、エチル(メタ)アクリレート、n-ブチル(メタ)アクリレート、ヘキシル(メタ)アクリレート、2-エチルヘキシル(メタ)アクリレート、フェニル(メタ)アクリレート、イソボルニル(メタ)アクリレート、ジシクロペンタニル(メタ)アクリレート、ジシクロペンテニロキシエチル(メタ)アクリレート、3-メタクリロキシプロピルトリス(トリメチルシロキシ)シラン、トリフロロエチル(メタ)アクリレート、テトラフロロプロピル(メタ)アクリレート、オクタフロロベンチル(メタ)アクリレート、ヘptaデカフルオロデシル(メタ)アクリレート、メチル-2-クロロアクリレート、3-クロロ-2-ヒドロキシプロピル(メタ)アクリレート、の如き単官能モノマー；ジエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ネオペンチルグリコールジ(メタ)アクリレート、1, 6-ヘキサンジオールジ(メタ)アクリレート、2, 2'-ビス(4-(メタ)アクリロイルオキシボリエチレンオキシフェニル)プロパン、2, 2'-ビス(4-(メタ)アクリロイルオキシボリアプロピレンオキシフェニル)プロパンの如き2官能モノマー；トリメチロールアプロパントリ(メタ)アクリレート、トリメチロールエタントリ(メタ)アクリレートの如き3官能モノマー；ペンタエリスリトールテトラ(メタ)アクリレートの如き4官能モノマー；ジペンタエリスリトールヘキサ(メタ)アクリレートの如き6官能モノマー、などが挙げられる。これらの化合物は、単独で用いることもでき、2種類以上を混合して用いることもできる。

【0041】また、エネルギー線硬化性化合物として、重合性オリゴマー(プレポリマーと呼ばれる)も用いることもでき、例えば、重量平均分子量が500~50000のものが挙げられる。そのようなオリゴマーとしては、例えば、エポキシ樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、ポリエーテル樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、ポリブタジエン樹脂の(メタ)アクリル酸エステル、分子末端に(メタ)アクリロイル基を有するポリウレタン樹脂などを挙げられる。これらのオリゴマーは、単独で使用することもでき、2種類以上のものを混合して使用することもでき、あるいは、モノマーと混合して使用することもできる。疎水性を増すなどの目的で、単官能の(メタ)アクリル系モノマーを混合することも可能である。

【0042】マレイミド系のモノマーとしては、例えば、マレイミド；N-メチルマレイミド、N-エチルマレイミド、N-ブチルマレイミド、N-ドデシルマレイミド、などのN-アルキルマレイミド；N-シクロヘキシルマレイミドなどのN-脂環族マレイミド；N-ベン

マレイミド、N-(2-クロロフェニル)マレイミド、2, 3-ジクロロ-N-(2, 6-ジエチルフェニル)マレイミド、2, 3-ジクロロ-N-(2-エチル-6-メチルフェニル)マレイミドなどのN-(置換又は非置換フェニル)マレイミド；N-ベンジル-2, 3-ジクロロマレイミド、N-(4'-フルオロフェニル)-2, 3-ジクロロマレイミドなどのハロゲン含有マレイミド；ヒドロキシフェニルマレイミドなどの水酸基含有マレイミド；N-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル)マレイミドなどのカルボキシ基含有マレイミド；N-メトキシフェニルマレイミドなどのアルコキシ基含有マレイミド；N-[3-(ジエチルアミノ)プロピル]マレイミド等のアミノ基含有マレイミド；N-(1-ピレニル)マレイミドなどの多環芳香族マレイミド；N-(ジメチルアミノ-4-メチル-3-クマリニル)マレイミド、N-(4-アニリノ-1-ナフチル)マレイミドなどの複素環含有マレイミド；ビオチンマレイミド、ペルオキシダーゼマレイミド、ホスファターゼマレイミドなどの生化学物質含有マレイミド；4, 4'-メチレンビス(N-フェニルマレイミド)、2, 3-ビス(2, 4, 5-トリメチル-3-チエニル)マレイミド、1, 2-ビスマレイミドエタン、1, 6-ビスマレイミドヘキサン、トリエチレングリコールビスマレイミド、N, N'-m-フェニレンジマレイミド、m-トリレンジマレイミド、N, N'-1, 4-フェニレンジマレイミド、N, N'-ジフェニルメタンジマレイミド、N, N'-ジフェニルエーテルジマレイミド、N, N'-ジフェニルスルホンジマレイミド、1, 4-ビス(マレイミドエチル)-1, 4-ジアゾニアビシクロ-[2, 2, 2]オクタンジクロリド、4, 4'-イソプロピリデンジフェニル=ジシアナート・N, N'-(メチレンジ-p-フェニレン)ジマレイミドなどの2官能マレイミド；N-(9-アクリジニル)マレイミドの如きマレイミド基とマレイミド基以外の重合性官能基とを有するマレイミド、などを挙げられる。これらのマレイミド系のモノマーは単独で使用することも、2種類以上を混合して使用することもできる。また、マレイミド系のモノマーは、ビニルモノマー、ビニルエーテル類、アクリル系モノマー等の重合性炭素・炭素二重結合を有する化合物と共重合させることもできる。

【0043】エネルギー線硬化性化合物は上記エネルギー線硬化性化合物の混合物であり得る。エネルギー線硬化性化合物の硬化物が架橋重合体となるためには、エネルギー線硬化性化合物は多官能のモノマー及び/又はオリゴマーを含有することが好ましい。

【0044】エネルギー線硬化性組成物は、必須成分としてエネルギー線硬化性化合物を含有し、必要に応じてその他の成分を含有させることができる。その他の成分

【0045】光重合開始剤は、本発明で使用するエネルギー線に対して活性であり、エネルギー線硬化性化合物を重合させることが可能なものであれば、特に制限はなく、例えば、ラジカル重合開始剤、アニオン重合開始剤、カチオン重合開始剤であって良い。そのような光重合開始剤としては、例えば、p-tert-ブチルトリクロロアセトフェノン、2, 2'-ジエトキシアセトフェノン、2-ヒドロキシ-2-メチル-1-フェニルプロパン-1-オンの如きアセトフェノン類；ベンゾフェノン、4, 4'-ビスジメチルアミノベンゾフェノン、2-クロロチオキサントン、2-メチルチオキサントン、2-エチルチオキサントン、2-イソプロピルチオキサントンの如きケトン類；ベンゾイン、ベンゾインメチルエーテル、ベンゾインイソプロピルエーテル、ベンゾインイソブチルエーテルの如きベンゾインエーテル類；ベンジルジメチルケタール、ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトンの如きベンジルケタール類；N-アジドスルフォニルフェニルマレイミドなどのアジドやマレイミドなどが挙げられる。

【0046】光重合開始剤は、エネルギー線硬化性組成物に溶解あるいは分散した状態で用いることができるが、エネルギー線硬化性組成物に溶解するものであることが好ましい。エネルギー線硬化性組成物中の光重合開始剤濃度は、0.01~20重量%の範囲が好ましく、0.5~10重量%の範囲が特に好ましい。

【0047】エネルギー線硬化性組成物に使用することができる溶剤としては、エネルギー線硬化性組成物を溶解でき、基板を侵さず、溝を充填しているゲルと混和しないものであれば、如何なるものであってもよいが、塗布後の物体を乾燥させる必要性から、揮発性の溶剤が好ましい。そのような溶剤としては、例えば、ジエチルエーテルの如きエーテル類；ヘキサン、トルエンの如き炭化水素；ジクロロメタン、ジクロロエタンの如き塩素系溶剤；フッ素塩素系溶剤、などが挙げられる。エネルギー線硬化性化合物としてオリゴマーを使用する場合には、塗工時の粘度を低下させるために溶剤を添加することが好ましい。

【0048】エネルギー線硬化性組成物に使用することができる増粘剤としては、例えば、エネルギー線硬化性組成物に可溶でゲルに不溶なりニアポリマーが挙げられる。

【0049】エネルギー線硬化性組成物に使用することができる改質剤としては、例えば、撈水剤として機能するシリコンオイルやフッ素置換炭化水素などが挙げられる。

【0050】エネルギー線硬化性組成物に含有させることができる着色剤としては、任意の染料や顔料、蛍光色素が挙げられる。

【0051】エネルギー線硬化性組成物を塗工賦形する方法には特に制限はない。塗工方法としては、例えば、

コーター、スプレー、浸漬等による塗布；ノズルからの押し出しなどの方法が挙げられる。また、スクリーン印刷、インクジェット式などの印刷、アプリケーションなどによるパターニング法により、基板上の必要部位にのみ塗布することも可能である。

【0052】また、エネルギー線硬化性組成物の未硬化の塗工物の上に、任意の素材から成るカバーを積層することも可能である。この場合、塗膜は基板とカバーの接着剤として作用する。カバーを積層させる場合には、エネルギー線硬化性組成物の基材への塗布は、エネルギー線硬化性組成物を塗布したカバーを基材に密着させる方法を探ることもできる。カバーの材質は、基材の素材として掲げた材料が使用でき、基材の材質と同じ材質であっても、異なる材質であってもよい。

【0053】エネルギー線硬化性組成物の未硬化の塗工物は、エネルギー線を照射することにより硬化させる。エネルギー線としては、エネルギー線硬化性組成物を硬化させることが可能なものであれば任意であり、紫外線、可視光線、赤外線などの光線；電子線；イオンビーム；エックス線、ガンマ線等の電離放射線が挙げられるが、取り扱い性や硬化速度の面から紫外線及び可視光が好ましく、紫外線が特に好ましい。重合開始剤が不要であることから、電子線も好ましい。硬化速度を速め、硬化を完全に行なう目的で、エネルギー線の照射を低酸素濃度雰囲気で行なうことが好ましい。低酸素濃度雰囲気としては、窒素気流中、二酸化炭素気流中、アルゴン気流中、真空又は減圧雰囲気などが好ましい。

【0054】本発明の第1の製造方法は、エネルギー線硬化性組成物をゲル原料のゲル化を行なった後にエネルギー線硬化性組成物を塗布するため、後述する本発明の第2の製造方法に比べて、塗布時における溝中のゲルの変形やゲルとエネルギー線硬化性組成物の混合が生じにくいので、エネルギー線硬化性組成物の組成や粘度の自由度が高く、また塗布方法の選択の自由度が高いという特徴がある。

【0055】本発明の第2の製造方法は、(1)幅1~1000 μ m、深さ1~1000 μ mの溝を有する基板の溝にゲル原料を充填する第1工程、(2)ゲル原料が充填された溝を有する基板の表面を、ゲル原料と相溶しないエネルギー線硬化性化合物を含有するエネルギー線硬化性組成物を塗布する第2工程、及び(3)エネルギー線を照射することによって、ゲル原料をゲル化させると共に、塗布したエネルギー線硬化性組成物を硬化させて塗膜を形成させる第3工程を有することを特徴とする本発明の電気泳動セルの製造方法である。

【0056】本発明の第2の製造方法において、ゲル原料はエネルギー線の照射によりゲル化することが必要である。これは、ゲル原料に含有されるゲル化物質としてエネルギー線によりゲル化可能な架橋重合性化合物を使用すること、及びエネルギー線としてゲル原料をゲル化

させ得るエネルギー線を使用すること、によって実施することができる。

【0057】ゲル原料に使用するエネルギー線によりゲル化可能な架橋重合性化合物としては、エネルギー線重合開始剤の非存在下でエネルギー線照射によりゲル化するものだけでなく、エネルギー線重合開始剤の存在下でのみエネルギー線照射によりゲル化するものも使用できる。

【0058】エネルギー線照射によりゲル化可能な架橋重合性化合物としては、例えば、アクリルアミド系モノマーを挙げることができる。アクリルアミド系モノマーは、通常、アクリルアミド又はその置換体の単官能モノマーと、ビスアクリルアミドなどの多官能モノマーとを混合して使用される。

【0059】エネルギー線重合開始剤としては、水溶性の光重合開始剤が使用でき、例えば、4-(2-ヒドロキシエトキシ)フェニル(2-ヒドロキシ-2-ウロピリ)ケトン、N-(4-カルボキシ-3-ヒドロキシフェニル)マレイミドが挙げられる。

【0060】電気泳動物質の検出を蛍光で行なう場合には、ゲルによる励起光の吸収を避けるため、光重合開始剤を使用せず、エネルギー線として短波長紫外線、電子線、イオンビーム、又は電離放射線を使用することが好ましい。

【0061】本発明の第2の製造方法においては、ゲル原料が充填された溝を有する基板の表面にエネルギー線硬化性組成物を塗布する。エネルギー線硬化性組成物、その塗布方法、及びその硬化方法は、塗布から硬化までの間に、エネルギー線硬化性組成物に含有されるエネルギー線硬化性化合物がゲル原料と相溶しないことが必要であること以外は、本発明の第1の製造方法と同様であり、本発明の第1の製造方法においてエネルギー線硬化性組成物として使用することができるものと同じエネルギー線硬化性組成物を使用することができる。

【0062】エネルギー線硬化性組成物が塗布された基板に、エネルギー線を照射し、エネルギー線硬化性組成物の塗膜とゲル原料を同時に重合・ゲル化させる。

【0063】これら以外については、本発明の第1の製造方法と同じである。エネルギー線硬化性組成物の未硬化の塗工物の上に、任意の素材から成るカバーを積層することができること、そして、この場合には、エネルギー線硬化性組成物の基材への塗布方法として、エネルギー線硬化性組成物を塗布したカバーを基材に密着させる方法を探ることができることも本発明の第1の製造方法と同じである。

【0064】本発明の第2の製造方法は、本発明の第1の製造方法と比較して、スルーアットが大きく、生産性が高いという特徴がある。

【0065】

更に詳細に説明するが、本発明はこれらの実施例の範囲に限定されるものではない。なお、以下の実施例において、「部」及び「%」は、特に断りがない限り、各々「重量部」及び「重量%」を表わす。

【0066】＜実施例1＞

〔電気泳動セルの作製〕

(基板材料の作製) アクリル樹脂(旭化成工業株式会社製の「デルベツト670N」)製の厚さ3mmの板から長辺120mm、短辺100mmの長方形の板を切り出し、基板の材料とした。

【0067】(溝形成材料の調製) 平均分子量約2000の3官能ウレタンアクリレートオリゴマー(大日本インキ化学工業株式会社製の「V-4263」)30部、エチレンオキサイド変性ビスフェノールAジアクリレート(第一工業株式会社製の「BPE-4」)70部、及び紫外線重合開始剤として1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン(チバガイギー社製の「イルガキュアー184」)2部を混合した紫外線硬化性の溝形成材料を調製した。

【0068】(ゲル原料の調製) アクリルアミド38%、ビスアクリルアミド2%の混合水溶液(和光純薬工業株式会社製の「電気泳動用40%アクリルアミド水溶液」)125部、5倍濃度トリス硼酸緩衝液(和光純薬工業株式会社製の「5倍濃度TBEバッファー」)200部、重合開始剤として30%ペルオキシ二硫酸アンモニウム水溶液(和光純薬工業株式会社製の「ペルオキシ二硫酸アンモニウム水溶液」)20部、重合開始剤としてN, N, N', N'-テトラメチルエチレンジアミン(和光純薬工業株式会社製の「N, N, N', N'-テトラメチルエチレンジアミン」)1.2部、蛍光染色剤として2.5μg/mL臭化エチジウム水溶液(和光純薬工業株式会社製の「臭化エチジウム水溶液」)1部、及び6M(360.3g/L)尿素水溶液(和光純薬工業株式会社製の「尿素水溶液」)652.8部を混合することにより、ゲル原料を調製した。

【0069】(エネルギー線硬化性組成物の調製) エネルギー線硬化性化合物としてエチレンオキサイド変性ビスフェノールAジアクリレート(第一工業株式会社製の「BPE-4」)100部、及び紫外線重合開始剤として1-ヒドロキシシクロヘキシルフェニルケトン(チバガイギー社製の「イルガキュアー184」)2部を混合したエネルギー線硬化性組成物(I)を調製した。

【0070】(基板の作製) 基板材料であるアクリル樹脂板の片面全面に、溝形成材料を厚さ50μmのバーコーターを用いて塗布した後、溝となるべき部分をフォトマスクングして、窒素雰囲気中で10mW/cm²の紫外線を30秒間照射した。紫外線照射装置はウシオ電機株式会社製のマルチライト200型露光装置用光源ユニットを用いた。得られたものは、フォトマスクング部は未硬化であり、照射部は硬化していた。照射後、イソプロパノールにて未硬化部を洗浄除去し、基板全体に先ほどと同じ紫外線を60秒間照射してエッジ部の硬化度を増

m、長さ100mmの溝(2)を8本有する基板(1)を得た。

【0071】(充填ゲルの形成)基板(1)の溝が形成された面に、基板の一方の長辺の端から35mmまでの範囲で、かつ一方の短辺の端から15~105mmの範囲(3)に、溝の中も含めて粘着性の塗装用マスキングテープを貼り、また、他方の長辺の側面にも溝からゲル原料が流出しないように塗装用マスキングテープを貼った。

【0072】ゲル原料を、武蔵エンジニアリング株式会社製ショットマスター2型アプリケーターを用いて、ゲル原料の液面が基板の溝以外の部分と同じ高さになるように基板の溝に充填し、保湿箱中で25℃で1時間保つことによりゲル原料をゲル化させて、溝に充填されたゲル(4)を形成した。

【0073】(電気泳動セルの作製)ゲルが充填された溝を有する基板面に、エネルギー線硬化性組成物(I)を厚さ125μmのバーコーターを用いて、基板の下部6.5cm及び基板の両端の範囲に塗布し、先ほどと同じ照射装置により窒素雰囲気中で10mW/cm²の紫外線を基板全面に10秒間照射して半硬化させ、マスキングテープを除去した後、再度60秒間照射することにより硬化塗膜(5)を形成し、塗膜(5)に覆われた部分の溝にのみゲル(4)が充填された、図1に示した形状の電気泳動セルを作製した。

【0074】(電気泳動測定)作製した電気泳動セルのゲル上端部(6)に、DNA試料として、シグマ社製の「φX174・DNA・マーカー・HaeIII・ダイジェスト」のnumバッファー希釈液0.1μLを置き、1分間放置することにより試料の一部をゲルに吸収させた後、余剰分をトリス硼酸緩衝液(和光純薬工業株式会社製「TBEバッファー」)にて洗浄除去した。アトー株式会社製の垂直スラブ型電気泳動装置のガラス製セルに代えて、この電気泳動セルをセットした後、電気泳動緩衝液としてトリス硼酸緩衝液(和光純薬工業株式会社製「TBEバッファー」)を用い、駆動電圧100Vにて15分間電気泳動を行った。

【0075】電気泳動終了後、電気泳動セルを装置から取り外し、蛍光顕微鏡(オリンパス製)を用い、その基板側から530nm励起側フィルター、560~580nm蒸着ミラーを使用して励起光を照射し、塗膜側からゲルが充填された溝部(4)を590nm受光側フィルターを使用して観察したところ、試料は6帯に分離されていることが確認された。

【0076】<実施例2>

(電気泳動セルの作製)実施例1において、エネルギー線硬化性組成物(I)に代えて、N-エチルマレイミド(東京化成工業株式会社製)40部及びヘキサジオールジアクリレート(日本化薬株式会社製「カヤラッドH

(II)を用いた以外は、実施例1と同様にして、電気泳動セルを作製した。

【0077】(電気泳動測定)実施例1と同様のDNAの電気泳動分析を行い、実施例1と同様の結果を得た。

【0078】<実施例3>

(電気泳動セルの作製)実施例1において、①実施例1で用いたゲル原料に代えて、アクリルアミド38%、ビスアクリルアミド2%の混合水溶液(和光純薬工業株式会社製「電気泳動用40%アクリルアミド水溶液」)125部、5倍濃度トリス硼酸緩衝液(和光純薬工業株式会社製の「5倍濃度TBEバッファー」)200部、蛍光染色剤として2.5μg/mL臭化エチジウム水溶液(和光純薬工業株式会社製)1部、及び6M(360.3g/L)尿素水溶液(和光純薬工業株式会社製)652.8部を混合することにより調製したゲル原料を用いたこと、②エネルギー線硬化性組成物(I)に代えて、エチレンオキサイド変性ビスフェノールAジアクリレート(第一工業株式会社製「BPE-4」)のみからなるエネルギー線硬化性組成物(III)を用いたこと、③ゲル原料を基板に充填した後、ゲルの硬化を行なうことなく、エネルギー線硬化性組成物(III)を基板に塗布したこと、さらに、④エネルギー線として、アイエレクトロンビーム社製ラポ機により、加速電圧175kV、線量10μradの電子線を窒素雰囲気中で照射し、エネルギー線硬化性組成物(III)の塗膜を硬化させると同時にゲル原料をゲル化させたこと、以外は実施例1と同様にして電気泳動セルを作製した。

【0079】(電気泳動測定)実施例1と同様のDNAの電気泳動分析を行い、実施例1と同様の結果を得た。

【0080】<実施例4>

(電気泳動セルの作製)実施例1において、溝を有する基板に酸素プラズマ処理を施した後、ゲル原料を充填した以外は、実施例1と同様にして、電気泳動セルを作製した。

【0081】なお、酸素プラズマ処理は、酸素圧力1:3kPa、励起電力100Wで5分間の処理を行った。基板の溝以外の部分の水との接触角(溝部分は細すぎて接触角は測定不能であるが、溝以外の部分と同じと考えられる)は、処理前が68度、処理後は41度であった。

【0082】(電気泳動測定)実施例1と同様のDNAの電気泳動分析を行い、実施例1とはほぼ同様の結果を得た。但し、本測定では、溝の壁面に対する遺伝子の吸着量の正確な比較は行っていない。

【0083】<比較例1>

(電気泳動セルの作製)アトー株式会社製の垂直スラブ型電気泳動装置用電気泳動セルのガラス板の間に、実施例1で用いたと同じゲル原料を充填してゲル化させ、単独スラブ型の電気泳動セルを作製した。この電気泳動セルは、2枚のガラス板の間に幅9cm、高さ8cm、厚さ1

mmのゲル層を有し、ゲル層の上辺にゲルの欠損部として、幅6mm、高さ1.5cmの試料装填部が1cmおきに8箇所形成されている。

【0084】（電気泳動測定）実施例1と同じ試料を用い、試料1 μ Lを試料装填部に注入したこと、ならびに3分間放置して試料の全量をゲルに吸収させたこと以外は実施例1と同様にして電気泳動分析を行った結果、泳動時間15分では分離は不完全であった。泳動時間を3時間に延長した結果、試料は実施例1と同じ6帯に分離された。

【0085】

【発明の効果】本発明の電気泳動セルは、ゲルが充填された溝を有する基板と、その表面を覆う塗膜が一体化しているので、取扱が容易で、小型化、軽量化が可能である。また、本発明の電気泳動セルは、ゲルが充填された溝を有する基板を覆うカバーが薄い塗膜から構成されているので、放熱性に優れるため、高速の電気泳動が可能である。さらに、本発明の電気泳動セルは、ゲルが充填

された溝を有する基板を覆うカバーが無溶剤で塗工できる架橋ポリマーで構成されているため、基板が溶剤可溶性のポリマーで構成されている場合であっても基板を犯すことがなく、また、ゲルを汚染することもない。さらにまた、本発明の電気泳動セルの製造方法によれば、電気泳動セルの製造が容易で、生産性が高く、溶剤が不要であるため、製造環境も良好である。

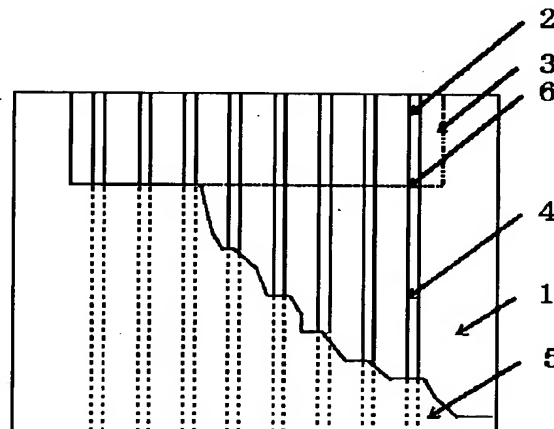
【図面の簡単な説明】

【図1】実施例で作製した電気泳動セルの形状を示す部分断面図である。

【符号の説明】

- 1 基板
- 2 溝
- 3 塗膜及びゲルの欠損範囲（マスキングテープ貼付範囲）
- 4 溝に充填されたゲル
- 5 塗膜
- 6 ゲルの上端部

【図1】



【手続補正書】

【提出日】平成11年2月4日（1999.2.4）

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】請求項1

【補正方法】変更

【補正内容】

【請求項1】（1）基板、（2）該基板の表面に形成された幅1～1000 μ m、深さ1～1000 μ mの溝、（3）該溝に充填されたゲル、及び（4）ゲルが充填された溝を有する基板の表面を覆う架橋ポリマーで構成された塗膜、を有することを特徴とする電気泳動セル。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0007

【補正方法】変更

【補正内容】

【0007】即ち、本発明上記課題を解決するために、（1）（1）基板、（2）該基板の表面に形成された幅1～1000 μ m、深さ1～1000 μ mの溝、（3）該溝に充填されたゲル、及び（4）ゲルが充填された溝を有する基板の表面を覆う架橋ポリマーで構成された塗膜、を有する電気泳動セルを提供する。